Beiträge

zur

Kenntnis eines pigmentbildenden Penicilliums.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Philosophischen Fakultät

der

Vereinigten Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Hugo Doebelt

aus Diemitz.

Halle a. S.

1909.

Referent: Prof. Dr. Küster.

Tag der mündlichen Prüfung: 9. März 1909.

Druck von A. Hopfer in Burg b. M.

Dem Andenken meines Vaters.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544709_0153

Inhaltsverzeichnis.

		Seite
I.	Einleitung	7—9
II.	Bedeutung des Nährmediums	9—19
	1. Kohlenstoffquelle	10—12
	2. Stickstoffquelle	12—14
	3. Mineralbestandteile	14—17
	4. Osmotischer Druck	17—18
	5. Aggregatzustand	19
	6. Reaktion	19
III.	Einwirkung äußerer physikalischer und chemischer Agentien	19—27
	1. Temperatur	19—21
	2. Licht	21
	3. Sauerstoff	21—22
	4. Andere Mikroorganismen	22—27
IV.	Eigenschaften des Pigmentes	27—29
V.	Zusammenfassung	29—30

Beiträge zur Kenntnis eines pigmentbildenden Penicilliums.

I. Einleitung.

Die Erscheinung der Farbstoffbildung durch Pilze und Bakterien ist schon oft Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen. Die in der Literatur vorliegenden Arbeiten[1]) verfolgen zum Teil das Ziel, farbstoffbildende Organismen im Sinne der Morphologie und Systematik zu beschreiben, oder die Bedingungen ihres Wachstums und insbesondere die Abhängigkeit der Farbstoffbildung von äußeren Bedingungen zu analysieren, oder schließlich die chemischen und physikalischen Eigenschaften der betreffenden Pigmente zu erforschen. Ein Beitrag zur Kenntnis der pigmentbildenden Pilze soll auch auf den nachfolgenden Blättern gegeben werden.

Auf Veranlassung von Herrn Prof. Küster stellte ich mit einer *Penicillium*-Art, welche imstande ist, einen roten Farbstoff zu bilden, eine Reihe von Versuchen an. Der Pilz wurde vor mehreren Jahren von Herrn Prof. Krüger[2]) im landwirtschaftlichen Institut der Universität Halle aus afrikanischem Zuckerrohr isoliert, und ist seit einer Reihe von Jahren im botanischen Institut zu Halle ein häufiger Gast.

Die Kultur des Pilzes gelingt leicht auf den verschiedensten Nährböden. Schon 2—3 Tage nach der Aussaat kann man auf Rohrzuckermineralsalzagar bei Zimmertemperatur (15—18°) ein deutliches Wachstum makroskopisch beobachten. In Tropfenkulturen kann man unter dem Mikroskop schon nach 24 Stunden Keimung konstatieren und nach 2 Tagen die Bildung neuer Konidien. Die Konidienrasen sehen anfangs grauweiß aus, weil zunächst nur an einzelnen Stellen Konidienträger gebildet

[1]) E. A. Bessey, Über die Bedingungen der Farbbildung bei *Fusarium*. Dissertation Halle 1904. — Th. Milburn, Über Änderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien. Dissertation Halle 1904. — Weitere Literatur bei Czapek, Biochemie der Pflanzen. Jena 1905. Bd. II, p. 493.

[2]) Herr Prof. Krüger, zurzeit Direktor der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Bernburg, teilte mir in liebenswürdiger Weise auf meine Anfrage die Art der Auffindung des Pilzes mit, wofür ich ihm auch hierdurch meinen Dank aussprechen möchte.

werden. Die Rasen werden dann bald grün, wenn die Konidienträger dicht beisammen stehen. Ausgewachsene Decken haben eine dunkelgrüne Farbe. Die grünen Konidiendecken werden von einem gelben Saum umrandet, der nach außen in farbloses Myzel übergeht. Die Sporen sind oval geformt (Länge 2,7—3,0, meist 2,8 μ; Breite 2,4 μ), und lassen bei mikroskopischer Untersuchung keinerlei Besonderheiten erkennen. Manche Konidien erscheinen bei sehr starker Vergrößerung an einem, andere an beiden Enden zitronenförmig zugespitzt. In alternden Kulturen ändert sich die Farbe der Konidiendecken, sie werden graubraun und unansehnlich, besonders in Gelatinekulturen.

Hat man zur Kultur einen Agarnährboden mit Rohrzucker und Mineralbestandteilen benutzt, so bemerkt man einige Tage nach dem Beginn der Konidienbildung, ungefähr 5—6 Tage nach der Aussaat, an der Unterseite der Myzeldecke einen hellroten Pigmentfleck. Dieser nimmt rasch an Ausdehnung und Intensität der Färbung beim weiteren Wachstum der Myzeldecke zu, so daß, günstige Vegetationsbedingungen vorausgesetzt, schließlich die gesamte Unterseite der Myzeldecke dunkelrot gefärbt ist.

In der Literatur finden sich bereits einige *Penicillium*-Arten erwähnt, welche sich durch Bildung von Pigment und insbesondere durch Erzeugung eines roten Farbstoffes auszeichnen. So hat Stoll[1]) zwei Arten, *Penicillium purpurogenum* und *P. rubrum* beschrieben, mit denen jedoch das von mir untersuchte *Penicillium* nicht identisch ist. Daß verschiedene Spezies vorliegen, geht zunächst aus der Form der Sporen hervor. *Penicillium rubrum* hat nach Stoll kugelige Sporen (2,8—3,5 μ Durchmesser). Die Sporen von *Penicillium purpurogenum* (2,8—3,3 ⩽ 2 μ) sind zwar gleichfalls oval geformt, aber etwas länger und schmaler als die der von mir untersuchten Art. Die Farbe der Sporendecke bei *P. purpurogenum* ist graugrün bis blaugrün, wie ich an einer mir von Herrn Prof. Wehmer freundlichst überlassenen Reinkultur beobachten konnte. Der Saum der Myzeldecke erschien orangegelb, während *Penicillium africanum*[2]), wie ich die von mir untersuchte Spezies vorläufig bezeichnen möchte, einen schwefelgelben Myzelsaum hat. *P. purpurogenum* und *P. africanum* unterscheiden sich weiterhin durch ihr Verhalten auf bestimmten Gelatinenährböden. Auf Rohrzucker-Mineralsalzgelatine bildet *P. purpurogenum* den Farbstoff purpurrot, *P. africanum* so dunkel blutrot, daß die Unterseite der Myzeldecke völlig verdeckt wird. *P. purpurogenum* und *P. rubrum* bilden ihren Farbstoff nach Stoll schon auf gewöhnlichem Agar, *P. africanum* jedoch nicht, vgl. p. 11. Weitere Unterschiede ergeben sich aus dem Verhalten der Farbstoffe, über das später ausführlich zu berichten sein wird.

---

[1]) O. Stoll, Beiträge zur morphologischen und biologischen Charakteristik von *Penicillium*-Arten. Dissertation Würzburg 1904.

[2]) Der Pilz wird im botanischen Institut zu Halle in Kultur gehalten und stehen Abimpfungen davon etwaigen Interessenten gern zur Verfügung.

Außerdem verdanke ich der Freundlichkeit von Herrn Prof. Wehmer eine Kultur eines weiteren *Penicillium*, das roten Farbstoff bildet, und von ihm vorläufig als *P. dubiosum* bezeichnet wird. Auch diese Spezies ist nicht identisch mit der von mir untersuchten Art. Das Myzel des *P. dubiosum* ist ausgesprochen gelb auf Agar-Rohrzuckernährböden, seine Sporen ganz abweichend in der Form: langgestreckt, fast spindelförmig (3,6 ⩽ 1,9 μ). Es unterscheidet sich ferner dadurch sehr deutlich von *P. africanum* und *P. purpurogenum*, daß es unter gleichen Bedingungen sein Pigment bereits zwei Tage eher als diese in intensiver Weise produziert.

Wie mir Herr Professor Wehmer auf meine Anfrage mitteilte, stimmt der von mir untersuchte Pilz auch nach seiner Ansicht nicht mit den ihm näher bekannten Arten überein. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Wehmer auch an dieser Stelle für seine freundlichen Bemühungen meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Der erste Teil meiner Aufgabe bestand nun darin, die Abhängigkeit der Farbstoffbildung von der Zusammensetzung des Nährbodens zu untersuchen. Neben der chemischen Zusammensetzung der Kulturen haben auch physikalische Agentien, wie die Temperatur, großen Einfluß auf die Farbstoffbildung. Weiterhin wurde untersucht, wie in Mischkulturen fremde Organismen auf Wachstum und Pigmentproduktion von *Penicillium africanum* einwirken. Der letzte Teil unsrer Mitteilungen wird sich mit den chemischen und physikalischen Eigenschaften des Pigmentes beschäftigen.

Das Impfmaterial wurde stets nur Reinkulturen entnommen, welche reichliche Farbstoffbildung aufwiesen.

II. Bedeutung des Nährmediums für Wachstum und Pigmentproduktion.

Insbesondere für Bakterien wird angegeben, daß die Pigmentproduktion durch die Gegenwart bestimmter Stoffe sehr gefördert werden kann. So ist z. B. nach Kuntze[1]) die Farbstoffproduktion von *Micrococcus prodigiosus* abhängig von der Darreichung von Schwefel und Magnesium. Die Farbstoffbildung von Pilzen soll besonders durch Kohlenhydrate begünstigt werden[2]).

Ich suchte zu ermitteln, ob auch bei meinem *Penicillium* eine ähnliche Abhängigkeit der Pigmentproduktion von der chemischen Qualität des Nährmediums besteht. Wir diskutieren daher zunächst den Einfluß der C- und N-Verbindungen und der Mineralbestandteile auf Wachstum, Sporenbildung und insbesondere Farbstoffbildung des *Penicilliums*, und werden

[1]) W. Kuntze, Zeitschr. Hyg. Bd. XXXIV, p. 169 (1900).

[2]) Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. Jena 1905—1907. Bd. IV, p. 231. S. auch Bessey l. c., p. 332.

dann den Einfluß der Konzentration bzw. des osmotischen Druckes des Nährmediums behandeln, und die Bedeutung des Aggregatzustandes der Nährsubstrate (flüssiges Nährmedium, Gelatine, Agar-Agar).

Ich kultivierte den Pilz auf verschiedenen festen und flüssigen Nährböden. Die mineralischen Nährstoffe wurden ihm in folgender Lösung geboten:

0,5 % KNO_3,
0,2 % $MgSO_4$,
0,2 % KH_2PO_4.

Diese Lösung ermöglichte bei Zugabe einer geeigneten Kohlenstoffquelle stets ein üppiges Wachstum des Pilzes.

Feste Nährböden wurden mittels 2 % Agar-Agar oder 10 % Gelatine hergestellt.

1. Bedeutung der Kohlenstoffquelle.

Das Vorkommen des Pilzes auf Zuckerrohr legte es nahe, die Bedeutung des Rohrzuckers für seine Entwicklung zu studieren.

Rohrzucker wurde in den verschiedensten Konzentrationen verabfolgt; dabei zeigte sich durchweg, daß er für Wachstum und Farbstoffbildung bei der Kombination mit KNO_3, $MgSO_4$ und KH_2PO_4 für beide Prozesse in gleicher Weise förderlich ist. Am günstigsten erwiesen sich Konzentrationen von 1—5 %. Es trat bei diesen Konzentrationen nach etwa 5 Tagen die Farbstoffbildung im Myzel ein; nach weiteren 4 Tagen färbte sich die gesamte Lösung rotbraun. Bei Anwendung höherer Konzentrationen von Rohrzucker (5—20 %) ging die Pigmentbildung langsamer vor sich, wohl infolge des hohen osmotischen Druckes. Daß die Ernährung mit Rohrzuckerlösung allein jedoch für die Bildung des Farbstoffes nicht genügt, ergab sich aus Versuchen, die mit 1—10 % Rohrzuckerlösung ohne Zusatz mineralischer Bestandteile angestellt wurden. Wohl infolge der geringen, im Zucker vorhandenen anorganischen Beimengungen war zwar dem Pilz noch ein spärliches Wachstum und sehr schwache Konidienbildung möglich, Farbstoffbildung war jedoch selbst nach 24 tägiger Versuchsdauer nicht zu erkennen.

Neben Rohrzucker wurden eine Reihe anderer Kohlenhydrate geprüft. Es kamen zur Anwendung 2 %ige Lösungen von Arabinose, Dextrose, Lävulose, Galaktose, Glukose und Raffinose, überall mit Zugabe von Mineralsalzlösung (einschließlich Kaliumnitrat). Auf allen Lösungen gedieh der Pilz gut und bildete reichlich Sporen. Auch der Farbstoff wurde überall gut hervorgebracht, wenn auch mit geringen Unterschieden. Galaktose und Raffinose erwiesen sich als am wenigsten günstig, Arabinose und Dextrose wirkten etwas günstiger, Lävulose und Glukose neben Saccharose am günstigsten.

Von Polysacchariden wurden Reis, Stärke, Agar-Agar und Cellulose geprüft.

Reiskulturen zeigten gutes Wachstum und kräftige Konidienbildung, das Pigment wurde auf ihnen nur schwach rotviolett gebildet. Ähnlich verhielten sich Stärke, Cellulose und Agar als Nährsubstrate.

Stärkelösung (30 %) allein verwendet, ermöglichte nur ein sehr spärliches Wachstum und äußerst geringe Farbstoffbildung. Wurde jedoch der Stärkenährboden mit Mineralsalzlösung anstatt mit destilliertem Wasser hergestellt, so trat reichliche Konidienbildung in einer dichten Decke und ziemlich gute Farbstoffbildung ein. Der Farbstoff hatte gleichfalls einen rotvioletten Ton.

Cellulosekulturen wurden nach Iterson[1]) mit reinem Fließpapier angestellt. Auf Papier von Schleicher & Schüll, welches mit destilliertem Wasser oder der oben erwähnten Salzlösung angefeuchtet worden war, erfolgte schwaches Wachstum und geringe Bildung von schwach rotviolettem Farbstoff.

Auf Agarnährböden, welche nur mit Mineralsalzlösung hergestellt waren, erfolgte nur eine spärliche Myzel- und Konidienbildung. Die Konidienträger standen hier nicht in einer dichten, einheitlichen Decke zusammen, sondern bildeten spärliche pünktchenförmige Gruppen. Farbstoff wurde auf diesem Nährboden nicht gebildet.

Es ist nicht zweifelhaft, daß bei Anwendung der genannten Nährböden die Natur des in ihnen enthaltenen Polysaccharides die ungleiche Stärke der Pigmentbildung bedingt hat.

Diese Versuche zeigen zwar, daß der Pilz mit mancherlei und auch mit recht bescheidenen Nährmaterialien auszukommen vermag, für eine reichliche Farbstoffbildung kommt jedoch, wie sich im folgenden weiter zeigen wird, nur eine begrenzte Gruppe von Kohlenstoffverbindungen in Frage.

Von mehrwertigen Alkoholen wurden Glyzerin, Erythrit, Quercit, Mannit und Isodulcit geprüft. Auf allen kam nur ein geringes Wachstum und keine Farbstoffbildung zustande.

An organischen Säuren wurden die folgenden auf ihre Brauchbarkeit als Kohlenstoffquelle untersucht: Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Citronensäure, Milchsäure, Oxalsäure und Weinsäure. Sie wurden in $^1/_2$ % und 1 %iger Lösung zusammen mit Mineralsalzlösung (einschließlich KNO_3) dargeboten. Die Mineralsalzlösung war auch bei den früher und in folgenden angeführten Versuchen mit anderen Kohlenstoffquellen ein konstanter Bestandteil der Nährlösung.

Die organischen Säuren können für *Penicillium africanum* nicht die Kohlenhydrate ersetzen. Das gebildete Myzel ist meist locker und bildet keine feste Decke. Auch die Konidien werden nur in einzelnen punkt-

[1]) Iterson, Die Zersetzung der Cellulose durch aërobe Mikroorganismen. Zentralbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. XI, 1904, p. 689.

förmig verstreuten Gruppen gebildet. Doch zeigten sich immerhin erhebliche Unterschiede in der Wachstumsintensität.

Auf Oxalsäure trat überhaupt kein Wachstum ein, bei den übrigen war es mehr oder weniger reichlich, ziemlich gut auf Bernsteinsäure. Auch zu einer nennenswerten Farbstoffbildung kam es nicht, höchstens war zu beobachten, daß sich in einigen Kulturen das Myzel an manchen Stellen schwach braunrot färbte. Nach der abnehmenden Intensität der Myzel- und Sporenbildung geordnet ergibt sich folgende Reihe: Bernsteinsäure, Äpfelsäure, Milchsäure, Zitronensäure, Weinsäure und Oxalsäure, die beiden letzten sind am wenigsten brauchbar.

Ähnliche Wirkung haben die Kalium- und Kalziumsalze der organischen Säuren. Es wurden 1 %ige Lösungen von äpfels. Ca, zitronens. K, essigs. Ca, milchs. Ca, oxals. K und weins. K verwendet. Das Wachstum und die Sporenbildung war in diesem Falle ebenso gering wie bei Anwendung freier Säuren. Farbstoffbildung war nach Ablauf von 28 Tagen nirgends sichtbar. Auf essigsaurem Kalzium und oxalsaurem Kalium war fast gar kein Wachstum zu konstatieren, während es auf weinsaurem Kalium sichtlich geringer als auf den übrigen war.

Als Resultat aller dieser Versuche ergibt sich, daß die Zuckerarten bei weitem die günstigste Kohlenstoffnahrung für Wachstum und Farbstoffbildung des Pilzes abgeben. Ihnen folgen dann Polysaccharide, wie Stärke und Reis, aus denen durch Einwirkung von Enzymen leicht Zuckerarten gebildet werden. Mehrwertige Alkohole, organische Säuren und deren Salze können nur als minder brauchbare Kohlenstoffquellen angesehen werden und sind im besonderen zu einer reichlichen Ausbildung des Farbstoffes nicht geeignet.

2. Bedeutung der Stickstoffquelle.

Ich stellte zunächst Versuche an mit 10 % Rohrzucker und der üblichen Salzlösung und ersetzte in dieser den Kalisalpeter durch andere stickstoffhaltige Substanzen, anorganische sowie organische. Bei Verwendung von je 0,5 % NH_4Cl, NH_4NO_3, $(NH_4)_2SO_4$, Asparagin oder Pepton wurde der Farbstoff ebenfalls und ebenso gut wie mit KNO_3 gebildet; daß einer der Stoffe eine günstigere Wirkung als der andere hatte, war nicht zu erkennen. Auch auf denselben Nährböden mit Agar oder Gelatine war kein Unterschied in der Wirkung des einen oder andern Stoffes zu erkennen, auch das Wachstum war überall gleich.

Ein anderes Bild ergab sich, wenn $MgSO_4$ und KH_2PO_4 fehlten, die Nährlösung also nur 5 % Rohrzucker und die verschiedenen Stickstoffquellen enthielt.

Jetzt zeigten sich die organischen Stickstoffquellen Asparagin und Pepton den anorganischen in bezug auf Brauchbarkeit für die Farbstoffbildung bei weitem überlegen. Die Asparaginlösungen färbten sich nach

6 Tagen prächtig rosa und bald dunkelrot, die Peptonkulturen etwas später. In den Kulturen mit anorganischem Stickstoff dagegen entwickelte sich nur eine schwach rotbraune bis braungelbe Farbe. Beim ersten Auftreten des Pigmentes färbte sich auch sogleich die gesamte Flüssigkeit. Der Farbstoff diffundierte also sehr schnell aus dem Myzel und blieb in der Kulturflüssigkeit gelöst. Auf sämtlichen Lösungen mit Ausnahme der Peptonkulturen waren Wachstum und Sporenbildung sehr gering.

Im Asparagin war demnach ein Stickstoffmaterial gefunden, bei dessen Gegenwart der Pilz, unter Zugabe von Zucker, reichliche Mengen von rotem Farbstoff bildet, bei sehr geringem Wachstum und spärlicher Sporenbildung. Sogar Asparaginlösung allein war schon zur Pigmentbildung ausreichend, die gebildete Farbstoffmenge war dann allerdings sehr gering und färbte die Nährflüssigkeit nur schwach rosa. Leuzin und Pepton oder Albumin allein führten nicht zur Farbstoffbildung, obwohl der Pilz auf Pepton ziemlich gut wuchs. Bei abnehmender Menge von Asparagin (2, 1, 0,5, 0,125 %) mit 5 % Rohrzucker war eine deutliche Abnahme der erzeugten Farbstoffmenge zu erkennen. Aber auch bei der schwächsten angewandten Konzentration (0,125 %), war die Farbstoffproduktion noch gut erkennbar.

Auch auf festen Agarnährböden führte eine Kombination von Asparagin und Rohrzucker zu intensiver Farbstoffbildung bei sehr spärlichem Wachstum, während Ammoniumsalze bei denselben festen Nährböden nicht zu so intensiver Pigmentbildung ausreichten. Der Farbstoff diffundierte in diesen Fällen ebenfalls gleich nach seiner Bildung stark in den Nährboden und färbte diesen gleichmäßig dunkelrot.

Es zeigen sich somit unter bestimmten Bedingungen deutliche Unterschiede in der Wirkung der einzelnen stickstoffhaltigen Substanzen in bezug auf die Farbstoffbildung. Optimale Stickstoffernährung besteht bei Gegenwart von Asparagin.

E. A. Bessey[1]) fand, daß auch für die Farbstoffbildung von *Fusarium* Asparagin und Pepton sehr günstig wirken.

Die spezifische Verschiedenheit des von mir untersuchten *Penicillium africanum* von ähnlichen *Penicillium*-Arten spricht sich auch bei Kultur der fraglichen Arten auf einer Lösung von Asparagin und Rohrzucker sehr deutlich aus.

P. africanum bildete nach 6 Tagen die geschilderte dunkelrote Flüssigkeit, während *P. purpurogenum* nach dieser Zeit unter denselben Kulturbedingungen nur eine schwache Rosafärbung der Lösung hervorrief und *P. dubiosum* überhaupt keine Pigmentproduktion erkennen ließ.

Schließlich wurde eine stickstoffreie Lösung geprüft. Sie enthielt 5 % Rohrzucker und je 0,2 % $MgSO_4$ und KH_2PO_4. Auf einer solchen

[1]) l. c., p. 318.

Lösung trat nur schwaches Wachstum und geringe Sporenbildung ein. Farbstoff war nach 20 Tagen nicht gebildet, während er in einer Kontrollösung, welche außerdem noch 0,5 % KNO_3 enthielt, schon nach 5 Tagen gebildet wurde.

3. Bedeutung der Aschenbestandteile K, Mg, S, P.

Die Mineralbestandteile bilden für künstlich zusammengesetzte Nährböden einen unentbehrlichen Teil des Substrates, ohne sie ist keine üppige Entwicklung des Pilzes möglich, auch wenn der Nährboden die übrigen unentbehrlichen Bestandteile (Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen) enthält. Die gänzliche Abwesenheit der Mineralstoffe würde das Wachstum des Pilzes völlig verhindern. Es ist jedoch außerordentlich schwer, sie gänzlich auszuschalten, da alle organischen Substanzen Spuren davon enthalten und durch das Wasser der Nährlösung geringe Mengen aus der Wandung der Kulturgefäße zugeführt werden.

Es schien nicht ausgeschlossen, daß irgend ein Bestandteil der mineralischen Salzlösung bei der Farbstoffbildung eine Rolle spielen könne. So sei hier nochmals auf die (p. 9 erwähnte) Beobachtung von Kuntze verwiesen.

Ich stellte daher die Versuche in der Weise an, daß ich einen oder mehrere Bestandteile der verwendeten Mineralsalzlösung fortließ. Als Kohlenhydrat wurde in allen Fällen 5 % Rohrzucker zugesetzt.

a) Kulturen ohne Zusatz von Mg, S und P.

Einige Kulturen enthielten nur 0,5 % KNO_3. Wachstum und Sporenbildung waren sehr spärlich. Das Myzel bildete lockere Fäden, die ziemlich tief in die Flüssigkeit hinabwuchsen, und keine zusammenhängende feste Decke, wie auf Lösungen von normaler Zusammensetzung. Die Farbstoffbildung begann 6—7 Tage nach der Aussaat und vollzog sich ebenfalls in anderer Weise als bei normalen Ernährungsbedingungen, indem der Farbstoff sogleich nach der Bildung aus dem Myzel austrat und in der Kulturflüssigkeit, die sich jedoch nur schwach rotbraun färbte, gelöst blieb.

b) Kulturen ohne Zusatz von S und P, Mg und P, Mg und S.

Ähnlich war das Ergebnis, wenn man

0,5 % KNO_3 + 0,2 % $MgCl_2$, oder
0,5 % KNO_3 + 0,2 % K_2SO_4

zur Kulturflüssigkeit gab.

In Kulturen mit 0,5 % KNO_3 + 0,2 % NaH_2PO_4 war jedoch Wachstum und Sporenbildung bedeutend kräftiger als auf Lösungen, welche nur KNO_3 enthielten. Der Farbstoff wurde nur sehr schwach gebildet und in den Myzelfäden festgehalten. Er bildete an der Unterseite der Myzeldecke einen blassen rotbraunen Fleck, die Kulturflüssigkeit blieb ungefärbt.

Während also in einer Lösung mit KNO_3 allein geringe Mengen rotbraunen Farbstoffs gebildet werden, fördert ein Zusatz von 0,2 % NaH_2PO_4 zu dieser Lösung zwar Wachstum und Sporenbildung, die Farbstoffbildung bleibt jedoch in diesem Falle fast völlig aus.

Das Resultat war also, daß, wie zu erwarten, ein oder zwei Salze der Mineralsalzlösung ein kräftiges Gedeihen des Pilzes nicht ermöglichen. Auch intensive Farbstoffbildung tritt nicht ein. Der gebildete Farbstoff wird nicht längere Zeit in den Hyphen zurückgehalten, sondern diffundiert sogleich nach der Bildung in die Nährlösung. Diese schnelle Diffusion des Farbstoffs in das Nährmedium und das künstlich hintangehaltene Wachstum scheinen in kausalem Zusammenhange zu stehen; beide Erscheinungen wurden auch bei allen andern Kulturen beobachtet, bei denen die zur Farbstoffbildung nötigen Bedingungen erfüllt waren (vgl. p. 13). So z. B. auf Lösungen, welche außer Rohrzucker Asparagin, Leuzin oder Pepton enthielten, ferner bei festen Nährböden.

Auf Rohrzuckeragar mit 0,5 % NH_4NO_3 oder andern Ammoniumsalzen war das Wachstum und die Sporenbildung ebenfalls sehr gering, dagegen die Farbstoffbildung gut. Das Pigment diffundierte gleich nach der Bildung weit in den Nährboden. Ebenso verhielt sich ein Agarnährboden, welcher Asparagin anstatt Ammoniumsalz enthielt. Es färbte sich der gesamte Nährboden in kurzer Zeit prächtig dunkelrot.

Die oben geschilderten Kulturen, welche nur einzelne Bestandteile der verwendeten Mineralsalzlösung enthielten, fielen mir ferner durch die schwach gelbbraune bis rotbraune Tönung des Pigmentes auf. In den früheren Kulturen mit festen und flüssigen Nährböden dagegen war der gebildete Farbstoff dunkelrot. In obigen Fällen war also nur sehr wenig Pigment gebildet worden.

Wie die Ersetzung des Kaliums durch Ammonium wirkt, wurde folgendermaßen geprüft. Die Lösung enthielt neben 5 % Rohrzucker je eine der folgenden Kombinationen:

1. 0,5 % NH_4NO_3,
2. 0,5 % NH_4NO_3 + 0,2 % $MgSO_4$,
3. 0,5 % NH_4NO_3 + 0,2 % KH_2PO_4,
4. 0,5 % NH_4NO_3 + 0,2 % $(NH_4)_3PO_4$

In den Kulturen 1 und 2 war das Resultat ähnlich wie bei den entsprechenden Versuchen mit Kaliumsalzen. Wachstum und Sporenbildung waren sehr gering, Farbstoffbildung trat nach 7 Tagen ein. Der Farbstoff löste sich sogleich in der ganzen Flüssigkeit mit rotbrauner Farbe. In 3 war das Wachstum des Myzels etwas besser, ebenso die Sporenbildung, Farbstoffbildung trat jedoch nicht ein. In 4 wurde fast nur vegetatives Myzel gebildet, die Pigmentbildung wurde in diesem Falle völlig gehemmt.

Die Ammoniumsalze haben also betreffs der Farbstoffproduktion keine andere Wirkung als die Kaliumsalze. Sie wirken jedoch stark hemmend auf die Sporenbildung, auch wenn die Nährlösung sauer ist. Auch in

Kulturen mit Rohrzucker und der üblichen Nährsalzlösung wurde die Sporenbildung durch Zugabe von 0,5 % NH_4Cl oder 0,5 % $(NH_4)_2SO_4$ stark beeinträchtigt.

Es ist oben bereits erwähnt worden, daß die Kulturen, welche nur einzelne Mineralsalze der üblichen Salzlösung enthielten, ebenso wie die geschilderten Kulturen mit Ammoniumsalzen nur eine schwach gelbbraune bis rotbraune Lösung des Farbstoffes lieferten. Beim Ausschütteln mit Äther ging das Pigment fast völlig mit gelber Farbe in den Äther über. Der dunkelrote Farbstoff von Asparagin-Rohrzuckerkulturen, der auch in festen Nährböden die intensive Rotfärbung hervorruft, ist dagegen unlöslich in Äther. Schüttelt man eine solche Kultur mit Äther aus, so löst sich gleichfalls ein gelber Anteil in diesem auf, die Hauptmenge des Pigments bleibt jedoch mit dunkelroter Farbe in der wässerigen Lösung zurück und läßt sich auch bei mehrmaligem weiteren Ausschütteln mit Äther nicht weiter entfärben.

Es scheint also, daß gleichzeitig zwei Farbstoffe gebildet werden, ein in Äther löslicher gelber, und ein darin unlöslicher roter Farbstoff. In den oben erwähnten Kulturen mit einzelnen Mineralsalzen wäre dann hauptsächlich nur der gelbe gebildet worden, während unter typischen Verhältnissen der rote Farbstoff besonders hervortritt.

Besonders phosphatfreie Kulturen (0,5 % KNO_3; 0,2 % $MgSO_4$; 5 % Rohrzucker) hatten fast ausschließlich gelbes Pigment gebildet.

Sowohl für Pilze[1]), als auch für Bakterien sind Fälle bekannt, wo gleichzeitig zwei Farbstoffe entstehen. Nach Czapek[2]) „extrahierte Gessard das Pyocyanin aus den Kulturen von *Bacillus pyocyaneus* mit Chloroform und fand, daß es noch von einem grün fluoreszierenden Farbstoffe begleitet wird. Auch Babes fand beide Pigmente wieder, welche je nach den Kulturbedingungen in verschiedenen Mengen auftreten."

Neuerdings stellte Sullivan[3]) noch fest, daß *Bacillus pyocyaneus* das Pyocyanin unabhängig von der Anwesenheit von Phosphat, Sulfat, Kali oder Magnesia bildet, doch vermögen namentlich $MgSO_4$ und KH_2PO_4 die Pigmentproduktion wesentlich zu steigern. Die Bildung von Fluoreszentenpigment ist dagegen an die Gegenwart von S und P gebunden.

Wir können unsere Ergebnisse dahin zusammenfassen, daß auch in Nährlösungen, zu welchen man K, Mg, S und P nicht eigens zugesetzt hat, von diesen für die Pilze unentbehrlichen Mineralbestandteilen noch genügende Quantitäten vorhanden sind, um Wachstum und Pigmentproduktion in den Kulturen zu ermöglichen. Wohl aber läßt sich zwischen

---

[1]) Bessey l. c., p. 313.

[2]) Czapek, Biochemie der Pflanzen. Jena 1905, Bd. II, p. 494.

[3]) Nach Koch, Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungs-Organismen. Leipzig 1904, 16. Jahrg., p. 13.

dem Verhalten des Pilzes auf Lösungen von typischer Zusammensetzung und auf solchen, zu welchen keine Mineralbestandteile hinzugefügt worden sind, ein Unterschied hinsichtlich der Qualität des Pigmentes und der Art und Weise seiner Bildung konstatieren.

4. Wirkung des osmotischen Druckes.

Um die Wirkung des osmotischen Druckes zu ermitteln, wurden Versuche mit Rohrzucker und Kalisalpeter in verschiedenen Konzentrationen bei wechselnder Stickstoffernährung in folgender Weise angestellt.

Es wurde zunächst der Pilz auf einer Nährlösung, welche außer Mineralsalzen Rohrzucker in wechselnden Konzentrationen (1,25%—40%) enthielt, ausgesät. Von 1,25% bis 20% Rohrzucker erfolgte das Wachstum und die Sporenbildung annähernd gleich schnell, erst bei 40% Rohrzucker wurde beides deutlich verlangsamt.

Farbstoffbildung trat bei 1,25% und 2,5% nach 5 Tagen, bei 5% nach 6 Tagen, bei 10% und 20% nach 8 Tagen auf, und bei 40% Rohrzucker trat nach 20 Tagen noch keine Pigmentbildung ein.

Bei einer andern Versuchsserie wurden zu der Nährlösung von Mineralsalzen und 2,5% Rohrzucker wechselnde Mengen von Kalisalpeter zugefügt (0%—16%).

Schon ein Zusatz von 2% KNO_3 bewirkte ein langsameres Wachstum und späteren Beginn der Sporenbildung.

Die Farbstoffbildung begann bei 0% und 1% KNO_3 nach 5 Tagen, bei 2% und 4% KNO_3 nach 8 Tagen, bei 8% nach 12 Tagen, während bei 16% nach 20 Tagen noch kein Farbstoff gebildet war.

Wir sprachen oben von der günstigen Wirkung des Asparagins auf die Pigmentbildung. Es wurde daher eine Versuchsserie angestellt mit Lösungen von 1% Asparagin und Rohrzucker in Konzentrationen von 1,25%—40%. In diesen Lösungen war überall nur sehr geringes Wachstum möglich, jedoch trat infolge des Zusatzes von Asparagin eine reichliche Farbstoffbildung ein. Da in diesem Falle, wie schon erwähnt, der Farbstoff sofort nach der Bildung in die Lösung diffundiert, so ist man leicht in der Lage, den Einfluß osmotisch wirksamer Substanzen aus der Intensität der Färbung der verschiedenen Nährlösungen zu erschließen.

Auch in diesem Falle war bei Konzentrationen des Rohrzuckers bis zu 20% keine erhebliche Hemmung des Wachstums zu erkennen; erst 40% Rohrzucker bewirkten eine deutliche Verzögerung des Wachstums.

Die Farbstoffbildung erfolgte in den Kulturen mit 1,25 % und 2,5 % Rohrzucker bereits nach 3 Tagen, bei 5 % nach 4 Tagen, nach 5 Tagen waren auch die Kulturen mit 10 % und 20 % Rohrzucker hellrot gefärbt, während bei 40 % Rohrzucker erst nach 9 Tagen Farbstoffbildung zu bemerken war.

Schließlich wurde auch zu einer Lösung von 1 % Asparagin und 2,5 % Rohrzucker als osmotisch wirksame Substanz Kalisalpeter in Mengen von 0, 1, 2, 4, 8 und 16 % hinzugesetzt.

In den Kulturen ohne KNO_3 begann die Farbstoffbildung bereits nach 4 Tagen, bei Zusatz von 1 % KNO_3 nach 5 Tagen, bei 2 % nach 7 Tagen, 4 % nach 8 Tagen, 8 % nach 10 Tagen, 16 % war nach 20 Tagen noch ohne Farbstoff.

Die nachstehende Tabelle zeigt, daß gleiche Mengen Rohrzucker oder Kalisalpeter je nach der Zusammensetzung des Nährmediums in etwas verschiedener Weise wirksam sind. In Lösungen mit Asparagin und Rohrzucker tritt die Farbe eher auf, als in solchen mit Mineralsalzen und Rohrzucker gleicher Konzentration und höhere Konzentrationen wirken im ersteren Falle weniger stark hemmend auf die Schnelligkeit der Farbstoffproduktion.

Tab. I. Bildung des Farbstoffes bei verschiedenen Konzentrationen von Rohrzucker.

	1,25 %	2,5 %	5 %	10 %	20 %	40 %
Mineralsalzlösung	nach 5 Tagen	nach 5 Tagen	nach 6 Tagen	nach 8 Tagen	nach 8 Tagen	nach 20 Tagen ungefärbt
1 % Asparagin	nach 3 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen	nach 5 Tagen	nach 9 Tagen

Tab. II. Bildung des Farbstoffes bei verschiedenen Konzentrationen von Kalisalpeter.

	0 %	1 %	2 %	4 %	8 %	16 %
Mineralsalzlösung und 2,5 % Rohrzucker	nach 5 Tagen	nach 5 Tagen	nach 8 Tagen	nach 8 Tagen	nach 12 Tagen blaßrosa	nach 20 Tagen ungefärbt
1 % Asparagin und 2,5 % Rohrzucker	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen	nach 7 Tagen	nach 8 Tagen	nach 10 Tagen	nach 20 Tagen ungefärbt

Die Versuche ergeben also, daß durch hohen osmotischen Druck sowohl das Wachstum als auch die Farbstoffbildung verzögert wird. Pigment wird stets erst einige Tage nach der Bildung der Konidien hervorgebracht. Von den angewandten Konzentrationen führten bei den Versuchen mit Rohrzucker die schwächsten Konzentrationen (1,25 % und 2,5 %) insofern zu einem optimalen Resultat, als bei ihnen die Farbstoffbildung am schnellsten eintrat.

5. Einfluss des Aggregatzustandes.

Das Pigment wird auf Lösungen, wie auf festen Agar-Agar oder Gelatinenährböden ohne wesentliche Unterschiede gebildet. Bei gleicher Zusammensetzung wird der Farbstoff jedoch auf Gelatinenährböden bedeutend intensiver gebildet, als auf Agarnährböden. Die Unterseite der Myzeldecke färbt sich in Gelatinekulturen intensiv blutrot, in Agarkulturen tritt erst nach längerer Zeit das Pigment intensiv auf.

6. Reaktion des Nährbodens.

Im allgemeinen waren die verwendeten Nährböden infolge der sauren Mineralsalzlösung schwach sauer. Um die Wirkung stärkeren Säuregehaltes zu prüfen, wurden zu einer Nährlösung mit 5 % Rohrzucker und Mineralsalzen, einschließlich KNO_3, abgemessene Mengen normaler Schwefelsäure zugesetzt. Konzentrationen bis zu $^1/_{100}$ Normalsäure hemmten das Wachstum und die Farbstoffbildung nicht. Bei $^3/_{100}$ Normalsäuregehalt bildete das Myzel kugelige isolierte Flocken. Es war schwach braunrot gefärbt, die Sporenbildung war sehr gering. $^5/_{100}$ Säuregehalt hemmte die Sporenbildung völlig, Farbstoff wurde nicht gebildet. Die weißen, 2—4 mm großen isolierten Myzelkugeln schwammen teils an der Oberfläche, teils lagen sie auf dem Boden des Kulturgefäßes. Ein Gehalt an $^1/_{10}$ Normalsäure hemmte auch das Wachstum völlig. Die Farbstoffbildung wird demnach eher unterbunden als das Wachstum.

Auf schwach alkalischen Nährböden ist das Wachstum des Pilzes sehr gering und die Farbstoffbildung bleibt aus. Erst wenn das Alkali durch die von dem Pilz produzierte Säure neutralisiert ist, entwickelt sich der Pilz kräftig und bildet Farbstoff. Die Säurebildung seitens des Pilzes auf schwach alkalischen festen Nährböden konnte durch Zusatz von Phenolphtaleinlösung sichtbar gemacht werden. Die Säure tritt zunächst in der Nähe des Myzels auf und diffundiert dann weiter in den Nährboden. Erst wenn die Phenolphtaleinfärbung verschwunden war, erfolgte kräftiges Wachstum und Farbstoffbildung.

III. Einwirkung äußerer physikalischer und chemischer Agentien.

1. Temperatur.

Die nachfolgend geschilderten Versuche, welche über die Bedeutung der Temperatur für das Wachstum und die Pigmentbildung von *Penicillium africanum* Auskunft geben sollen, wurden mit einem Agarnährboden, der Rohrzucker und Mineralsalze enthielt, angestellt. Das Wachstum war bei 35° und 30° am besten, bei 25° schon merklich langsamer und bei einer Temperatur, die zwischen $3^1/_2$°—10° schwankte, konnte man nach 10 Tagen

nur unter dem Mikroskop schwaches Wachstum und sehr spärliche Sporenbildung beobachten, während bei 2°—6° innerhalb 10 Tagen keine merkliche Keimung erfolgte. Das Optimum für das Wachstum liegt also bei 30—35°.

Die Farbstoffbildung begann bei 35° und 30° schon nach 3 Tagen, bei 15—18° erst nach 6—7 Tagen. Kulturen, die bei Temperaturen unter 15° gestanden hatten, zeigten nach 10 Tagen noch nicht die geringste Farbstoffbildung.

Bei höherer Temperatur blieb das Pigment im wesentlichen auf den Impfstrich beschränkt, der übrige Teil der Myzeldecke blieb farblos. Das Pigment der bei 30—35° gehaltenen Kulturen wurde sehr schnell blauschwarz und unansehnlich. Flüssige Nährböden von entsprechender Zusammensetzung ergaben ähnliche Resultate, jedoch war in diesen Fällen auch bei 30°—35° das gebildete Pigment blutrot.

Der Einfluß der Temperatur auf die Farbstoffbildung ließ sich auf folgende Weise noch deutlicher nachweisen.

Ich verglich die Farbstoffbildung in Kulturen mit 5% Rohrzucker + 1% Asparagin, die teils bei 15—18° Zimmertemperatur, teils bei 30° Thermostatentemperatur gehalten worden waren. In beiden Kulturserien kam gleicherweise nur ein geringes Wachstum und sehr spärliche Sporenbildung zustande. Durch die schnelle Diffusion des Farbstoffes in die Nährlösung war man bei diesen Kulturen leicht in der Lage, aus der Tiefe des Farbentones einen Schluß auf die Menge des gebildeten Farbstoffes zu ziehen.

Es ergab sich, daß in den Thermostatkulturen der Farbstoff schon nach 2 Tagen, bei Zimmertemperatur erst nach 4—5 Tagen gebildet wurde. Am 9. Tage waren jedoch die bei Zimmertemperatur gehaltenen Kulturen deutlich dunkler gefärbt, als die Thermostatkulturen. Dieser Unterschied nahm im weiteren Verlauf noch zu, da in den Thermostatkulturen die Farbstoffbildung sehr bald aufhörte. Bei höherer Temperatur wurde also die Farbstoffbildung anfangs beschleunigt, später aber gehemmt. Ob die Färbung im Thermostaten bei längerem Aufenthalt, wie es zuweilen schien, wieder abnimmt, konnte ich nicht entscheiden, wird aber durch folgenden Versuch wahrscheinlich gemacht. Eine Kultur auf Asparagin + Zuckerlösung, welche bei Zimmertemperatur bereits kräftig dunkelroten Farbstoff gebildet hatte, wurde geteilt (auch das Myzel); die eine Hälfte wurde bei Zimmertemperatur belassen, der andere Teil wurde in einem sterilisierten Gefäß in den Thermostaten (30°) gebracht. Nach 10 Tagen war die Thermostatkultur sichtlich schwächer gefärbt, als die bei Zimmertemperatur belassene Kontrollkultur. Der Unterschied rührte nicht davon her, daß bei letzterer die Farbstoffbildung noch weiter zugenommen hatte, sondern die anfänglich dunkelrote Lösung wurde im Thermostaten schließlich hellrot. Diese Wirkung höherer Temperatur beobachtete ich auch bei Verwendung ähnlicher fester Nährböden. (2% Agar, 2,5% Rohrzucker, 0,5% Aspa-

ragin.) Auch in diesem Falle trat zunächst die Farbstoffbildung eher ein, um schon nach 7 Tagen völlig stillzustehen, oder sogar auch hier wieder der Pigmentgehalt abzunehmen, so daß einige Kulturen nach 9 Tagen nur am Impfstrich eine Spur Pigment aufwiesen, während in den bei Zimmertemperatur gehaltenen Kulturen der gesamte Nährboden prachtvoll dunkelrot gefärbt war und blieb. Brachte man Thermostatkulturen, bei denen nur sehr wenig Farbstoff zu sehen war, wieder in Zimmertemperatur, so begann nach einigen Tagen bei ihnen wieder kräftige Farbstoffbildung, zunächst am vegetativen Rande der Myzelscheibe, bald jedoch unter der gesamten Myzeldecke.

2. Licht.

Die Bildung des roten Farbstoffes ist völlig, oder doch nahezu unabhängig von dem Einflusse des Lichtes. Viele Versuche wurden doppelt durchgeführt, teils am Licht, teils in Dunkelheit, jedoch bei derselben Temperatur. In beiden Fällen wurde das Pigment bei Ernährungsbedingungen, welche für seine Bildung günstig waren, gebildet. Meist jedoch wurde der Farbstoff im Dunkeln etwas besser hervorgebracht.

Auch im roten und blauen Licht unter Senebierschen Glocken wurde das Pigment produziert. Ein deutlicher Unterschied in der Wirkung des verschiedenen Lichtes trat auch dabei nicht hervor. Direktes Sonnenlicht hinderte zwar nicht die Ausbildung des Farbstoffes, jedoch wurde dieser anscheinend zersetzt und färbte sich bräunlich.

Schließlich wurden noch einige Versuche mit verschiedenen festen und flüssigen Nährböden bei gleicher Temperatur angestellt, um zu ermitteln, ob das verschiedene Licht einen Einfluß auf die Schnelligkeit der Pigmentproduktion habe. Jedoch auch dabei trat kein Unterschied zutage, überall wurde der Farbstoff gleichschnell gebildet.

3. Sauerstoff.

Sauerstoff ist zum Wachstum des Pilzes notwendig. Im anaeroben Raume entwickelte er sich nicht. Die Pilzsporen werden jedoch durch den Mangel an Sauerstoff nicht getötet. Nach Zutritt der Luft entwickelten sie sich in normaler Weise. Reichlicher Zutritt von Luft scheint die Farbstoffbildung zu befördern. In Reagensglaskulturen mit flüssigem Nährmedium erschien die Farbe meist zunächst in solchen Myzelteilen, welche am Rande der Flüssigkeit der Gefäßwand anhafteten. Untergesunkene Myzelflocken blieben lange Zeit farblos und färbten sich dann nur schwach rotbraun.

Starke Transpiration allein scheint keinen besonders fördernden Einfluß auf die Farbstoffbildung zu haben. Brachte man Myzeldecken aus Kulturen mit flüssigen Nährböden, welche noch keine Farbe gebildet hatten, in eine feuchte Kammer, so zeigte sich keine Wirkung der gesteigerten Transpiration auf die Farbstoffbildung. Ebensowenig zeigte sich

ein Unterschied in der Farbstoffbildung, wenn der Pilz in Dosen auf den üblichen Agarnährboden geimpft wurde und nach 3 Tagen einige Kulturen durch Entfernen des Deckels zu besonders starker Transpiration veranlaßt wurden.

Querschnitte durch feste Nährböden zeigten unter dem Mikroskop, daß der Farbstoff hauptsächlich an der Oberfläche gebildet wird. Er war in einer dünnen Schicht an der Oberfläche sehr stark angehäuft, während die Myzelfäden in den tiefer liegenden Teilen des Nährbodens nur sehr schwach gefärbt waren.

4. Einwirkung fremder Mikroorganismen.

Über die mannigfaltige Einwirkung, welche Organismen verschiedener Art in Mischkulturen aufeinander ausüben, liegen bereits zahlreiche Angaben in der Literatur vor[1]).

Auch unser *Penicillium* wirkt auf andere Mikroorganismen, die neben ihm zur Aussaat und zur Entwicklung kommen, sehr mannigfaltig ein, und wird von ihnen in sehr charakteristischer Weise beeinflußt. Bei der Schilderung unserer Beobachtungen wollen wir im folgenden zunächst von der Einwirkung sprechen, welche fremde Lebewesen (Pilze oder Bakterien) auf unser *Penicillium* haben können, und im zweiten Abschnitt von der Wirkung von *Penicillium africanum* auf seine Nachbarn sprechen.

a) Einwirkung fremder Organismen auf die Farbstoffbildung von *Penicillium africanum*.

Meine ersten einschläglichen Beobachtungen wurden an Kulturplatten gesammelt, bei welchen *Penicillium africanum* neben *Aspergillus niger* sich entwickelte. Es stellte sich heraus, daß an den Kontaktstellen beider Pilze der Farbstoff von *Penicillium* reichlicher gebildet wurde.

Die Versuche, durch welche diese Erscheinung näher erforscht werden sollte, wurden teils mit Nährböden angestellt, welche für die Pigmentbildung von *Penicillium africanum* günstig waren (α), teils mit solchen, auf welchen *Penicillium* unter typischen Wachstumsbedingungen kein Pigment produzierte (β).

α. Auf einem Agarnährboden mit 5 % Rohrzucker und Mineralsalzen wird der Farbstoff von *Penicillium* ziemlich gut gebildet. Es wurden zunächst *Penicillium* und *Aspergillus niger* auf diesem Nährboden an demselben Punkte ausgesät. Es trat dann die Farbstoffbildung bei Zimmertemperatur schon nach 4 Tagen am Impfpunkt deutlich hervor, während sie in Kontrollkulturen, in welchen *Penicillium africanum* allein ausgesät worden war, erst 6 Tage nach der Aussaat beobachtet werden konnte. Bei längerer Kultur wurde dann das Pigment in den Mischkulturen bedeutend kräftiger

[1]) Literatur bei Küster, Über die chemische Beeinflussung der Organismen durcheinander. Leipzig 1909.

gebildet als in den Reinkulturen. *Aspergillus niger* wirkte also in bemerkenswerter Weise beschleunigend und fördernd auf die Farbstoffbildung ein.

Impfte man auf den Kulturplatten beide Pilze punktförmig in verschiedenen Abständen voneinander aus, so bildete *Penicillium africanum* an der Kontaktzone mehr Pigment, als an den übrigen Stellen der Myzeldecke.

Die gleiche Wirkung wie *Aspergillus niger* übte auf diesem Nährboden *Hypocrea rufa*[1]) in Mischkulturen mit *Penicillium africanum* auf die Farbstoffproduktion des letzteren aus.

In dem Kapitel über den Einfluß der Temperatur ist bereits erwähnt worden, daß auf dem genannten Nährboden *Penicillium* bei einer Temperatur von 30° fast nur am Impfpunkt Pigment bildet, und der übrige Teil der Myzelscheibe farblos bleibt. Auch bei Kultur im Thermostaten (30°) ließ sich durch nachträgliche Impfung von *Aspergillus niger* an den Rand der Myzelscheibe von *Penicillium* Farbstoffbildung schon nach 24 Stunden an denjenigen Stellen des Myzels von *Penicillium* beobachten, welche mit den *Aspergillus*-Kolonien in Berührung gekommen waren.

Ich versuchte, zu analysieren, wodurch im einzelnen *Aspergillus niger* seinen Einfluß auf die Farbstoffbildung des *Penicillium* gewinnt. Wie bekannt, bildet *Aspergillus niger* auf sehr vielen Nährmedien reichliche Mengen von Oxalsäure; es lag daher nahe, zu probieren, ob Oxalsäure oder deren Salze an sich schon genügen, um die Farbstoffbildung seitens des *Penicillium* zu fördern. Ich brachte Tropfen einer verdünnten Lösung von Oxalsäure oder oxalsaurem Kalium an den Rand der Myzelscheibe einer farblosen *Penicillium*-Kultur. Eine Anregung zur Pigmentproduktion ließ sich jedoch auf diese Weise nicht erzielen. Auch gekochte Nährlösung aus einer alten *Aspergillus*-Kultur hatte keine Wirkung. Ebensowenig konnte mit roher *Aspergillus*-Nährlösung, die durch Filtration durch ein Tonfilter von den Sporen befreit worden war, eine Wirkung erzielt werden.

Wurden Agarplatten, auf welchen *Penicillium africanum* wuchs, im Thermostaten durch Bakterien irgendwie verunreinigt, so zeigte sich, daß auch diese das *Penicillium* durch ihre Stoffwechselprodukte zur Farbstoffbildung anregen, denn die geschilderte Wirkung trat auch schon ein, wenn die Bakterienkolonien selbst mit dem Myzel von *Penicillium* noch nicht in Berührung gekommen waren, sondern nur die ausgeschiedenen, in den Nährboden diffundierenden Stoffwechselprodukte wirken konnten.

β. Von besonderem Interesse sind diejenigen Fälle, in welchen *Penicillium* durch fremde Organismen nicht in seiner Farbstoffbildung gefördert, sondern in welchen ihm diese erst durch die Nachbarschaft fremder Pilze und die von ihnen geschaffenen Bedingungen ermöglicht wurde.

Auf einem Agarnährboden mit Mineralsalzen gedeiht der Pilz zwar spärlich, Farbstoff wird jedoch nicht hervorgebracht.

---

[1]) Der Pilz tritt seit Milburn's Untersuchungen (s. p. 1) sehr häufig im bot. Institut zu Halle auf.

Ich impfte nun *Penicillium* auf diesem Nährboden sowohl mit *Aspergillus niger*, als auch *Hypocrea rufa* zusammen aus, teils an demselben Punkte, teils in einem Abstande von 1—3 cm. *Aspergillus niger* wuchs auf diesem Nährboden gleichfalls sehr schlecht, eine Anregung zur Pigmentbildung trat jedoch nicht zutage. Anders verhielt sich indessen *Hypocrea rufa*. Dieser Pilz wuchs auf einem solchen Nährboden noch ziemlich gut und viel schneller als *Penicillium*. Seine Myzelscheibe umwuchs die des *Penicillium* und nach 6 Tagen bildete sich am Rande der Myzelscheibe von *Penicillium* ein blaßroter Ring von Pigment, das in den Nährboden hinein diffundiert war. Wenn beide Pilze zusammen ausgesät wurden, zeigte sich am Impfpunkt ebenfalls eine schwache Farbstoffbildung.

Diese Versuche waren in doppelter Weise angestellt worden. Ein Teil der Kulturen war dem diffusen Tageslicht ausgesetzt, ein andrer Teil in demselben Zimmer im Dunkeln gehalten worden. Bei den in Dunkelheit gewachsenen Mischkulturen trat die oben geschilderte Bildung von Pigment in keinem Falle ein, obwohl beide Pilze im Dunkeln in derselben Weise wie am Licht wuchsen. Erst wenn einige dieser Dunkelkulturen dem diffusen Tageslicht ausgesetzt worden waren, bildeten sie schon nach 1—2 Tagen den Farbstoff in derselben Weise aus, wie Kulturen, welche von Anfang an hell gestanden hatten. Das Licht ist also in diesem Falle ein notwendiger Faktor für die Pigmentbildung.

Das gebildete Pigment verschwand auch bei diesen Versuchen allmählich wieder, anscheinend nicht durch Diffusion.

Da man wohl annehmen muß, daß die anregende Wirkung von *Hypocrea rufa* durch eine chemische Änderung im Nährboden verursacht wird, untersuchte ich, ob die gleiche Wirkung zu erzielen ist, wenn man zunächst *Hypocrea rufa* auf dem verwendeten Nährboden kultiviert, dann den Nährboden sterilisiert und nun *Penicillium* zur Aussaat bringt. Auf diese Weise konnte ich jedoch keine Farbstoffbildung erzielen. Es ist möglich, daß der fragliche Stoff durch das Sterilisieren zerstört wird, oder er wird in sehr geringer Menge gebildet und verteilt sich bei der Sterilisation überall im Nährboden, so daß er dann nicht mehr genügend wirksam werden kann. In Mischkulturen der beschriebenen Art trat übrigens der Farbstoff nicht so intensiv auf, wie bei Reinkulturen auf einem für die Farbstoffbildung günstigen Nährboden, also z. B. auf dem gleichen Nährboden mit einigen Prozent Rohrzucker.

Schließlich wurden noch Versuche mit Gelatine und Mineralsalzen angestellt. Auf diesem Nährboden ist *Penicillium africanum* bei Reinkultur ebenfalls nicht imstande Farbstoff zu bilden. Das Wachstum ist jedoch etwas kräftiger als auf Agarnährboden.

Durch gleichzeitiges Verimpfen von *Aspergillus niger*, *Hypocrea rufa* oder *Botrytis cinerea* mit *Penicillium africanum* trat in allen Fällen Farbstoffbildung am Impfpunkt ein.

Wurde einer dieser Pilze mit *Penicillium* auf dieselbe Kulturplatte in einem Abstande von einigen Zentimetern geimpft, so trat ebenfalls Farbstoffbildung an der Kontaktzone der beiden Pilze ein. *Aspergillus niger* und *Hypocrea rufa* bewirkten ziemlich kräftige Pigmentbildung, *Botrytis cinerea* hatte nur geringe Wirkung.

Auch bei diesem Versuch war ein Einfluß des Lichtes auf die Farbstoffbildung erkennbar. In Mischkulturen, die hell gestanden hatten, erschien das Pigment schon nach 3—4 Tagen, in Dunkelkulturen erst nach 8 Tagen.

Auch das vegetative Myzel von *Xylaria Hypoxylon* regt *Penicillium africanum* auf einem nährstoffarmen Substrat, wie Pflaumensaftagar, an der Kontaktzone zur Pigmentbildung an.

Wir werden somit durch die geschilderten Beobachtungen zu der Annahme geführt, daß entweder viele Substanzen, die als Stoffwechselprodukte irgend welcher Mikroorganismen in den Mischkulturen auftreten können, die Farbstoffbildung unseres *Penicillium* zu fördern imstande sind; oder daß es sich um eine im Mikroorganismenreiche weit verbreitete Substanz handelt, welche die geschilderte Wirkung auf *Penicillium* hat. Daß in den beschriebenen Fällen der Agar von den fremden Organismen hydrolysiert und infolgedessen dem *Penicillium* eine geeignete Kohlenhydratnahrung geschaffen wird, ist nicht als ausgeschlossen zu bezeichnen, wenn auch die Beobachtungen an mineralsalzhaltigen Gelatinenährböden diese Annahme nicht gerade zu stützen geeignet erscheinen.

In der Literatur liegen bereits einige Angaben über die Einwirkung fremder Mikroorganismen auf die Farbstoffbildung von Pilzen und Bakterien vor. Schon Zopf[1]) betont den Wert der Reinkultur für die Untersuchung pigmentbildender Pilze auf künstlichen Nährböden. Nach Wehmer und Vuillemin[2]) bildet *Mucor Rouxii*, der Pilz der „chinesischen Hefe" auf Reis gezüchtet, einen charakteristischen orangegelben Farbstoff aus, dasselbe Pigment erscheint ferner bei Aussaat des Pilzes auf Kartoffelscheiben bei Bakteriengegenwart. Auch an Bitter's Beobachtungen[3]) über den schwarzen Farbstoff, den Krustenflechten beim Zusammentreffen ihrer Ränder bilden, wäre hier zu erinnern. Für *Bacillus pyocyaneus*, der mit andern Bakterien oder Pilzen zusammen kultiviert wurde, erhielten Mühsam und Schimmelbusch[4]) ein entgegengesetztes Resultat, insofern als in Mischkulturen die Farbstoffproduktion stets schwächer ausfiel.

[1]) Zopf, Die Pilze in morphologischer, physiologischer, biologischer und systematischer Beziehung. Breslau 1890, p. 183.

[2]) Zitiert nach Czapek, Biochemie der Pflanzen. Jena 1905, Bd. II, p. 497.

[3]) Bitter, Über das Verhalten der Krustenflechten beim Zusammentreffen ihrer Ränder. Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik 1898, Bd. XXXIII, p. 47.

[4]) Mühsam und Schimmelbusch, Über die Farbproduktion des Bacillus pyocyaneus bei der Symbiose mit andern Mikroorganismen. Archiv f klin. Chirurgie 1893, Bd. 46, p. 677.

b) Wirkung von *Penicillium africanum* auf fremde Pilze.

An denselben Mischkulturen, über die wir soeben berichtet haben, ließ sich ferner beobachten, daß *Penicillium africanum* auch selbst seine Nachbarn beeinflußt, indem es ihr Wachstum hemmt, ihre Hyphen tötet und sie färbt.

Auch hier können wir beginnen mit einer Schilderung der Mischkulturen von *Penicillium africanum* und *Aspergillus niger*.

Impft man beide Pilze punktförmig, in 1—3 cm Abstand voneinander, auf Mineralsalzagar + Rohrzucker, so breiten sich beide zunächst in einer normalen Myzelscheibe aus. Hatten sich die beiden Myzeldecken bis auf einen kleinen Abstand einander genähert (2—3 mm, in manchen Fällen schon bei 6 mm Abstand), so trat die gegenseitige Beeinflussung im Wachstum deutlich hervor. Die breite Zone des sterilen Saumes wurde schmaler, und die Sporendecke reichte bis nahe an den Rand der Myzelscheiben, die sich gegenseitig im Wachstum hemmten, so daß bald eine mehr oder weniger lange Kontaktzone zustande kam. *Hypocrea rufa* wird durch *Penicillium* in seinem Wachstum nicht merklich beeinflußt.

Besonders auffallend war das Verhalten fremder Pilzhyphen gegenüber dem von *Penicillium africanum* in den Nährboden ausgeschiedenen Farbstoffe. Dieser wurde von den Hyphen der andern Pilze in reichlicher Menge aufgenommen, am stärksten unmittelbar an der Kontaktzone. Es entstanden auf diese Weise höchst auffallende Bilder. Unter dem Mikroskop zeigte sich deutlich die stark rotbraune Färbung der fremden Hyphen, besonders ihrer Spitzen.

An den Enden der *Aspergillus*-Hyphen war vielfach Plasmoptyse eingetreten, die ebenfalls als Wirkung des *Penicillium* anzusprechen ist. Die Speicherung des Farbstoffes in den fremden Hyphen trat schon ein, wenn sich beide Myzelscheiben noch nicht berührten. Der Farbstoff wird also aus dem Nährboden, in welchen er in geringer Menge diffundiert ist, durch das fremde Myzel angehäuft.

Die stark gefärbten Hyphen, welche zwischen ungefärbten Hyphen der Kontaktzone häufig auftraten, machten, auch wenn Plasmoptyse fehlte, den Eindruck toter Zellen. Das führt weiterhin zu der Annahme, daß von dem *Penicillium* ein Stoff ausgeschieden wird, welcher unter den geschilderten Verhältnissen einen Teil der fremden Pilzhyphen zum Absterben bringt.

Die Beobachtungen über die Färbbarkeit des Myzelplasmas mit dem roten *Penicillium*-Farbstoff gaben Veranlassung zu untersuchen, ob auch intravital der Farbstoff von Pilzzellen aufgenommen werden kann. Zur Färbung toter Zellen benutzte bereits Rosenberg[1]) den Farbstoff des

[1]) Rosenberg, Über die Verwendung des Prodigiosin in der botanischen Mikrotechnik. Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XV, 1898, p. 56.

Micrococcus prodigiosus. Pinoy[1]) fand, daß Bakterienpigmente z. B. der Farbstoff von *Bacillus kiliensis* und *Bacillus violaceus* imstande sind lebendes Plasma zu färben. Es lag daher nahe, auch den *Penicillium*-Farbstoff auf seine Färbkraft lebenden Zellen gegenüber zu prüfen.

Ich brachte zu diesem Zwecke die Sporen verschiedener Schimmelpilze auf einer stark gefärbten sterilisierten Lösung einer Asparagin-Rohrzuckerkultur auf dem Objektträger zur Aussaat. Die Objektträger wurden unter einer feuchten Glocke gehalten.

Nach 18 Stunden waren *Mucor Mucedo* und *Rhizopus nigricans* bereits gekeimt und ließen deutlich eine Speicherung des Farbstoffes in den Vakuolen erkennen. Bei Hefezellen konnte wegen der Kleinheit des Objektes keine deutliche Färbung beobachtet werden.

IV. Chemische und physikalische Eigenschaften des Pigmentes.

Da wir über die chemische Konstitution der von Bakterien oder Pilzen gelieferten Pigmente nichts wissen und auch über ihre empirische Formel nur ausnahmsweise unterrichtet sind, können wir die Identität oder Verschiedenheit mehrerer Pilz- oder Bakterienfarbstoffe nur dadurch erweisen, daß wir ihre Löslichkeitsverhältnisse, ihr Verhalten gegen chemische Agention und ihre spektroskopischen Eigenschaften miteinander vergleichen.

Der rote Farbstoff von *Penicillium africanum* ist leicht löslich in Wasser. In sämtlichen Kulturen diffundiert er, je nach der Zusammensetzung des Nährmediums, mehr oder weniger schnell in dieses hinein. Stoll (a. a. O.) erwähnt nichts über die Diffusion des Pigments bei *Penicillium purpurogenum* und *P. rubrum.* Durch Ausschütteln mit Äther läßt sich der Farbstoff aus der wässrigen Lösung nicht entfernen. Es zeigte sich indessen, wie schon bemerkt (s. p. 16), daß ein gelber Farbstoff in Äther oder Chloroform übergeht, der beim Verdunsten des Äthers in Form von gelben öligen Tröpfchen zurückbleibt. Auch ganz junge Kulturen zeigten diese beiden verschiedenen Bestandteile, so daß es sich anscheinend nicht um ein Zersetzungsprodukt des roten Farbstoffes, sondern um gleichzeitige Bildung von zwei Farbstoffen handelt.

Der rote Farbstoff ist ferner löslich in Alkohol, unlöslich in Äther, Chloroform und Xylol. Dagegen löst er sich in einer Auflösung von Lecithin in Chloroform. Beim Verdunsten dieser Lösung bleibt das Lecithin amorph zurück, der Farbstoff bleibt daran gebunden. Vielleicht läßt sich mit dieser Löslichkeit in Lecithinchloroform die Eigenschaft des Pigmentes, lebende Zellen zu färben, in Zusammenhang bringen. Overton[2]) hat für

[1]) Pinoy, Rôle des bactéries dans le développement de certains myxomycètes Annales de l'Institut Pasteur 1907, Bd. 41, p. 622.

[2]) Overton, Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle. (Pringsheim's Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXIV, 1899, p. 669.)

Anilinfarbstoffe nachgewiesen, daß besonders diejenigen, welche in einem Gemisch von Lecithin oder Cholesterin mit Chloroform löslich sind, vitale Färbkraft besitzen.

In einem Gemisch von Cholesterin und Chloroform löst sich der rote Penicilliumfarbstoff nicht.

Die wäßrige Lösung des roten Farbstoffes zeigte folgendes Verhalten:

Kalilauge verfärbt die Lösung zu gelbbraun, Neutralisation mit Salzsäure stellt die Farbe wieder her. Ammoniak bringt die rote Farbe langsamer zum Verschwinden. Nach 24stündigem Stehen fluoresziert die gelbbraune Lösung prächtig grün. Barythydrat und kohlensaures Alkali bewirken keine Veränderung.

Säuren wie Salzsäure, Schwefelsäure oder Salpetersäure bleichen die rote Lösung zu gelbbraun schon in der Kälte. Neutralisieren mit Ammoniak stellt in allen Fällen die rote Farbe wieder her. Phosphorsäure, konz. Essigsäure, Weinsäure und Oxalsäure verändern die Farbe weder in der Kälte noch beim Kochen.

Durch Wasserstoffsuperoxyd wird die Lösung nicht verändert, dagegen durch Kaliumpermanganat entfärbt. Die Farbe wird durch Formaldehyd nicht wieder hergestellt.

Mit Formaldehyd wird die wässrige Lösung bei längerem Stehen (1—2 Stdn.) blauviolett.

Durch Metallsalzlösungen wie Aluminiumsulfat, Cobaltchlorür, Bleiacetat oder Kupfersulfat wird der Farbstoff nicht gefällt, jedoch färbt sich die Lösung mit Kupfersulfat braunviolett.

Der Farbstoff wird durch Tierkohle absorbiert, Kaolin (Merck), Kalziumsulfat oder Kalziumkarbonat entfärben die Lösung nicht, Wolle oder Baumwolle werden durch den Farbstoff nicht gefärbt.

Aus der alkoholischen Lösung des roten Farbstoffes wird dieser durch Kalilauge als voluminöser Niederschlag von rötlich weißer Farbe gefällt. Der Niederschlag löst sich mit roter Farbe im Wasser auf. Aus der alkoholischen Lösung konnte der Farbstoff nicht kristallinisch erhalten werden, sondern nur amorph.

Mit Ammoniak versetzt gibt die alkoholische Lösung bei längerem Stehen gleichfalls grüne Fluoreszenz.

Der Farbstoff ist kein Lipochrom, wie aus seinem Verhalten gegen Lösungsmittel und konz. Schwefelsäure hervorgeht.

Das Absorptionsspektrum der wässrigen roten Lösung ist nicht sehr scharf. In einer 5 mm dicken Schicht zeigt das Spektrum ein breites Absorptionsband in der Übergangszone von Grün zu Blau. Bei 10 mm dicker Schicht wird auch das äußerste Ende von Violett absorbiert. Eine 20 mm dicke Schicht läßt nur noch rote und gelbe Strahlen passieren.

Es wäre noch die Frage zu erörtern, ob der rote Farbstoff von *Penicillium africanum* auf Grund der oben angeführten Eigenschaften sich

mit einem der bisher bekannten roten Bakterien oder Pilzfarbstoffe in Beziehung bringen läßt.

Von roten Bakterienfarbstoffen hat das „Prodigiosin" von *Micrococcus prodigiosus* mit ihm einige Ähnlichkeit. Das Prodigiosin löst sich dagegen in Alkohol mit roter Farbe, auf Alkalizusatz wird die Lösung gelb, mit viel H_2SO_4 färbt sie sich veilchenblau.

Die Angaben von Stoll über die Pigmente von *Penicillium purpurogenum* und *Penicillium rubrum* lassen gleichfalls auf eine Verschiedenheit derselben von dem Farbstoffe von *Penicillium africanum* schließen. Das Pigment von *Penicillium purpurogenum* ist löslich in Alkohol (purpurviolett) und Wasser sowie verdünnter Essigsäure, unlöslich in Äther und Chloroform.

Ein in Äther löslicher gelber Farbstoff ist von Stoll für *Penicillium purpurogenum* nicht gefunden worden. Starke Säuren und Laugen zerstören ihn zum Unterschied von *Penicillium africanum* anscheinend unter Bräunung, da er durch Neutralisieren nicht mehr entstand.

Der Farbstoff von *Penicillium rubrum* zeigt nach Stoll noch erheblichere Differenzen gegen den von *Penicillium africanum*. Er ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, Ammoniak und Soda. Von Säuren löste ihn Essigsäure, wenn auch schwer in gelbrötlicher Farbe. Schüttelt man diese Lösung mit Äther aus, so färbt sich dieser hellgelb.

Von roten Farbstoffen anderer Pilze[1]) ist das Pigment des *Monascus pupureus* löslich in Alkohol, Äther und Chloroform. Die *Russula*-Pigmente besitzen nach Weiß in alkoholischer Lösung schöne Fluoreszenz, desgleichen das von Reinke aus *Penicilliopsis clavariiformis* dargestellte kristallisierbare Mykoporphyrin. Das rote Pigment des Fliegenpilzes, das Amanitin, ist unlöslich in Wasser, löslich (mit grüner Fluoreszenz) in Alkohol. Der rote Farbstoff von *Fusarium*, den Bessey[2]) untersucht hat, reagiert ähnlich wie Lackmus, er wird blauviolett mit Alkalien.

Es ergibt sich somit, daß der rote Farbstoff von *Penicillium africanum* mit keinem der bisher beschriebenen Pilzpigmente identisch ist.

V. Zusammenfassung.

Das untersuchte *Penicillium* bringt besonders auf kohlenhydrathaltigen Nährböden einen blutroten Farbstoff hervor. Daneben wird in geringerer Menge ein mit gelber Farbe in Äther löslicher Farbstoff gebildet.

Organische Stickstoffquellen befördern bei künstlich unterdrücktem Wachstum die Bildung des roten Farbstoffes gegenüber anorganischen Stickstoffverbindungen.

Fehlt einer oder mehrere Bestandteile der Mineralsalzlösung, so wird das Wachstum und die Bildung des roten Farbstoffes stark beeinträchtigt und hauptsächlich gelbes Pigment erzeugt.

---

[1]) Zitiert nach Czapek, Biochemie der Pflanzen. Jena 1905, Bd. II, p. 498.

[2]) Bessey l. c., p. 308.

Hoher osmotischer Druck hemmt zunächst die Farbstoffbildung, in geringerem Maße das Wachstum.

Der Farbstoff wird nur bei saurer Reaktion des Nährbodens gebildet.

Hohe Temperatur fördert das Wachstum und ist nachteilig für die Farbstoffbildung.

Die Bildung des Farbstoffes geschieht unabhängig vom Licht.

Sauerstoff ist für Wachstum und Pigmentbildung notwendig.

Die Nachbarschaft fremder Pilze *(Aspergillus niger, Hypocrea rufa)* und Bakterien befördert die Farbstoffproduktion.

Auf Nährböden, welche zur Farbstoffbildung nicht ausreichend sind, kann durch Kontakt mit andern Pilzen *(Hypocrea rufa, Aspergillus niger, Botrytis cinerea, Xylaria Hypoxylon)* die Bildung von Farbstoff herbeigeführt werden.

Dieser Einfluß anderer Pilze ist abhängig, oder wird begünstigt von diffusem Tageslicht.

Die vorliegende Arbeit wurde im botanischen Institut der Universität Halle in der Zeit vom Mai 1908 bis Februar 1909 unter Leitung von Herrn Professor Dr. Küster ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Küster auch an dieser Stelle für die vielfache freundliche Unterweisung meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Separat-Abdruck aus Annales Mycologici, Jahrg. 1909, Bd. VII, p. 315—338.

Lebenslauf.

Ich, Hugo Karl Doebelt, evangelischer Konfession, bin geboren am 15. Juni 1885 zu Halle a. S. als Sohn des Reißzeugfabrikanten Hugo Doebelt und seiner Ehefrau Marie, geb. Halle. Ich besuchte zunächst die Mittelschule, später die städtische Oberrealschule zu Halle, welche ich Michaeli 1904 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Darauf widmete ich mich dem Studium der Naturwissenschaften an der Universität Halle. Ich hörte bei folgenden Herren Dozenten:

Bauch, Berger, Brandes, Brückner, Brüel, Conrad, Dorn, Ebbinghaus, Eberhard, Erdmann, Fries, v. Fritsch, Goldschmidt, Gutzmer, Klebs, Küster, Lüdecke, Mez, Noll, Riehl, Roux, Schmidt, Taschenberg, Ule, Volhard, Vorländer, Walther, Wüst.

Allen diesen Herren möchte ich an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aussprechen.